1381

Estudios sobre el "Kala-azar infantil„ y la "Leishmania infantum„ en España

TROPICAL DISEASES BUREAU
LIBRARY.

WELLCOME INSTITUTE LIBRARY
Coll. wellTROmec
Call No. QAM WC715 1912 P68e

TROPICAL DISEASES BUREAU
RECEIVED
21 JUL. 1913

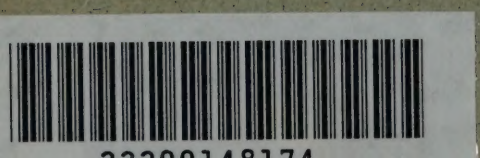
POR

G. PITTALUGA,

J. GARCÍA DEL DIESTRO Y MANUEL VILÁ

(Extraído del «Boletín del Instituto Nacional de Higiene de Alfonso XIII», núm. 32, 31 de Diciembre de 1912).

MADRID
IMPRENTA Y LIBRERÍA DE NICOLÁS MOYA
Garcilaso, 6, y Carretas, 8.
—
1913



Estudios sobre el "Kala-azar infantil„ y la "Leishmania infantum„ en España

POR

G. PITTALUGA,

J. GARCÍA DEL DIESTRO Y MANUEL VILÁ

(Extraído del «Boletín del Instituto Nacional de Higiene de Alfonso XIII», núm. 32, 31 de Diciembre de 1912).

MADRID
IMPRENTA Y LIBRERÍA DE NICOLÁS MOYA
Garcilaso, 6, y Carretas, 8.
—
1913

I

En anteriores notas publicadas durante estos últimos meses, uno de nosotros (1) ha dado cuenta del hallazgo de casos de «Kala-azar infantil» (esplenomegalia parasitaria de los niños), debidos á parásitos del género *Leishmania*, en la costa de Levante de España. El número de casos observados en breve tiempo; la localización de todos ellos en los límites de la campiña que rodea á la ciudad de Tortosa, y en el delta del Ebro; el recuerdo de casos análogos, identificables por el síndrome clínico y la marcha de la enfermedad con estos ahora observados, recuerdo que ha sido reiteradamente confirmado por diferentes médicos de la localidad, permiten creer fundadamente que no se trata de casos aislados ó esporádicos, ni de un proceso morboso de reciente importación, sino de *un foco endémico de Kala-azar infantil*, cuyos límites de intensidad y de difusión quedan por determinar, y deben ser determinados con la cooperación activa de todos

(1) G. Pittaluga: El Kala-azar infantil (esplenomegalia parasitaria de los niños) en la costa de Levante de España (*Revista Clínica de Madrid*, 1.° Octubre 1912, y *Revista Ibero-Americana de Ciencias médicas*, Octubre 1912).—Hallazgo de Leishmania infantum, protozoo parásito, etc. (*Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural*, Octubre 1912, y *Boletín del Instituto Nacional de Higiene de Alfonso XIII*, 31 Septiembre 1912).—Kala-azar infantil y parásitos del género Leishmania en la costa de Levante de España (*Boletín de la Sociedad Española de Biología*, Diciembre 1912).

los médicos de la región levantina, muy particularmente de las comarcas limítrofes al foco actualmente demostrado.

Este primer trabajo tiene, por lo pronto, dos principales objetos: 1.°, establecer con algún detalle los datos que poseemos hasta la fecha acerca del Kala-azar infantil y de la presencia de parásitos del género *Leishmania* en España; 2.°, ordenar estos datos y exponerlos en tal forma, que puedan servir como guía y como punto de partida para las pesquisas y las observaciones de otros médicos, alentados por estos primeros hallazgos y deseosos de contribuir al esclarecimiento y resolución de las numerosas cuestiones relacionadas con la etiología, la patogenia, la epidemiología, la profilaxia y el tratamiento de la *esplenomegalia parasitaria de los niños*. Aun reduciendo á más modesta esfera la participación personal suya en este estudio del Kala-azar infantil en España, los médicos de los distritos mediterráneos de la costa de Levante y Mediodía de la península, encontrarán quizás en la exposición que sigue elementos de juicio para afinar el diagnóstico clínico en casos dudosos de la patología infantil; ejemplos para cotejar la sintomatología de procesos morbosos sospechosos; datos para afirmar ó negar la existencia de esta enfermedad entre los niños de las localidades en que ejercen. Séanos permitido estimular, excitar la atención y la actividad de nuestros compañeros en este sentido. Estamos seguros de que bien pronto se demostrará la existencia del Kala-azar infantil en muchos puntos de la costa de España (1).

---

(1) Cuando estamos ya corrigiendo las pruebas de imprenta, llega á nuestras manos una carta del distinguido interno de la Facultad de Medicina de Granada, D. Fidel Fernández y Martínez, á quien habíamos rogado se encargase de averiguar la existencia del Kala-azar infantil en aquellas comarcas.

He aquí los párrafos más interesantes de su carta:

«Por lo pronto, sé que en la zona de Albuñol, la Rábita, la Mamola, etc., hay una enfermedad infantil, relativamente frecuente, que ataca á los niños en la época del destete ó poco después; comienza con fiebre é intensa esplenomegalia, evoluciona con diátesis hemorrágica y termina irremisiblemente por la muerte, después de fenómenos gastro-intestinales y, sobre todo, bucales.

Parece relacionada con los viajes que periódicamente hacen á Orán los segadores

En este trabajo se prescinde, sin embargo, de una descripción metódica del síndrome que corresponde á esta enfermedad. Uno de nosotros, que recientemente ha tenido ocasión de estudiar en Sicilia, en Túnez y en Argelia los problemas más interesantes que se relacionan con el Kala-azar infantil, ha expuesto en una serie de artículos (1) cuanto importa someramente conocer para su diagnóstico diferencial y para su estudio.

---

alpujarreños, y los médicos la distinguen de las esplenomegalias palúdica, tuberculosa, sifilítica, etc., aunque no aciertan á clasificarla. No cede al arsénico ni á la quinina, y recibe el nombre vulgar de *bazo de leche*, por residir en el bazo y coincidir con la lactancia. Las mujeres del terreno saben diagnosticarla, y cuando se presenta en sus hijos no suelen ni aun llamar al médico, por considerarla irremisiblemente mortal.

Tales informes me los han proporcionado los médicos del contorno, y espero que haya algún caso en actividad para hacer el análisis y punción de bazo. Si para ello fuese necesario iría al pueblo en cuestión.

Creo, por consiguiente, salvo vuestra mejor opinión, que tenemos un foco de Leishmaniosis, cuyos límites están aún por fijar. Camacho, en Almuñécar, recuerda un caso análogo, aunque sin detalles».

Inútil es decir que coincidimos en la opinión de nuestro joven amigo, y creemos que él y los médicos del litoral de las provincias de Granada y Málaga encontrarán pronto la confirmación definitiva de la existencia, mucho más frecuente de lo que se piensa, del Kala-azar infantil.—*G. Pittaluga.*

(1) José García del Diestro: Estado actual de nuestros conocimientos sobre el Kala-azar infantil (*Revista Clínica de Madrid*, 15 Mayo 1912).—Algunas consideraciones prácticas sobre el Kala-azar infantil (*Revista Clínica de Madrid*, 1.° Octubre, 15 Octubre y siguientes).

Aprovechamos esta ocasión para expresar nuestra gratitud á los Dres. Concetti y Basile (de Roma), Yemma, Di Cristina, Cannata y Caronia (de Palermo), Longo (de Catania), Conor (de Túnez) y E. Sergent (de Argel) por las atenciones y enseñanzas que de ellos hemos recibido, y que contribuyen á facilitarnos el estudio de esta cuestión en España.—*J. García del Diestro.*

II

Uno de nosotros, que ejerce desde hace años en la ciudad de Tortosa y tiene frecuente ocasión de visitar enfermos de la comarca cercana y de las pequeñas poblaciones del delta del Ebro (M. Vilá) había observado muchas veces casos de esplenomegalia considerable en niños de corta edad, entre algunos meses y tres ó cuatro años, acompañada por palidez extremada, cérea; por edemas; por fenómenos febriles sin carácter de intermitente; por otros síntomas peculiares, que hacían muy difícil y dudoso el diagnóstico. El tratamiento con las sales de quinina resultaba del todo ineficaz. Casos parecidos habían visto los médicos de Ampolla, Amposta, Ametlla y Perelló, pueblos cercanos á Tortosa. En este último punto, primero el Dr. Pujol y más tarde su sucesor y actual titular, Dr. Torrademé, observaron numerosos casos parecidos; y acerca de su diagnóstico y significación cambiaron frecuentes impresiones y consultas con otros compañeros. El Dr. D. Alejandro Frías y Roig, que actualmente ejerce en Reus, refiere en reciente comunicación (1) que durante el tiempo en que desempeñó la titular de Ametlla tuvo repetidas ocasiones de observar casos semejantes, entonces interpretados como leucemias ó pseudoleucemias infantiles. Ya el Dr. Pujol, del Perelló, sospechaba que pudiera tratarse de una enfermedad infecciosa peculiar. De todos modos, así el Dr. Frías como el Dr. D. Pedro Vallvé, que le sustituyó en Ametlla, como el Dr. Torrademé en Perelló, y los médicos de Tortosa casi unánimemente separaban

(1) *Boletín del Colegio de Médicos de Reus*, Octubre 1912.

esta dolencia, por los caracteres que le son propios, de las anemias esplenomegálicas post-palúdicas ó del paludismo crónico (caquexia palúdica con bazo grande). A tal punto vieron claras las diferencias clínicas entre aquella enfermedad y la esplenomegalia palúdica, que, á pesar de tratarse de una localidad intensamente malárica, encontramos en el espacio de ocho años 42 defunciones de niños menores de cuatro años, atribuídas (sólo en la estadística de Perelló), á *leucemia*, *esplenomegalia pseudoleucémica*, *anemia esplénica*, *esplenitis leucémica*, etc. (1).

Este síndrome, que corresponde, con arreglo á las definiciones nosológicas admitidas hasta hace muy pocos años, á la *anemia esplénica febril de los niños*, de Somma, Fede y von Jacks; constituye en realidad un proceso morboso *sui generis* debido á la acción de un protozoo parásito del género *Leishmania* (*Leishmania infantum*, Nicolle, 1908), cuyo primer hallazgo en España, y precisamente en los casos de Tortosa, se debe á las pesquisas é investigaciones de Pittaluga y Vilá.

Ha llegado ahora el momento de que pasemos á referir las historias clínicas de los primeros enfermos observados ya con un criterio diagnóstico determinado, avalorado por el resultado positivo de la investigación microbiológica. Estas historias clínicas se deben á la observación del Dr. Vilá.

---

(1) Hállanse expuestos estos datos, con mayores detalles, en la comunicación ya recordada de G. Pittaluga: El Kala-azar infantil (esplenomegalia parasitaria de los niños) en la costa de Levante de España (*Revista Clínica de Madrid*, 1.° Octubre 1912).

III

1.º Juan Abella, *dieciocho meses*. Calle de la Merced, 9, Tortosa. Padre de treinta y cuatro años, labrador. Madre de veintinueve años. Lactancia materna. Tiene un hermano de cinco años, sano. Hace seis años falleció otro hermano, de un año, de hidrocefalia. Habitan de ordinario una finca de la partida de Fullola.

Le presentan á la consulta de D. Manuel Vilá, en Tortosa, el 31 de Marzo de 1912 por primera vez. Lo hacen por encontrarle desde hace unos días con fiebre que, según la madre, tiene sus alternativas que á ella le hacen sospechar sean tercianas. Dice la madre que hace más de un mes que le nota un color amarillento en la cara.

En efecto, se nota un color *céreo* de los tegumentos, en especial de la cara. Gran atrofia muscular.

La digestión se efectúa bastante bien y las deposiciones son normales. Nada anormal ofrece el aparato respiratorio. En el circulatorio nótase frecuencia de pulso (110 pulsaciones); temperatura 39º. El hígado no alcanza á rebasar el reborde costal. Nada de infartos ganglionares. Bazo que ocupa todo el hipocondrio y fosa ilíaca izquierdos, así como gran parte de la región umbilical; viene á tener el tamaño de una cabeza de feto á término.

Continúa con temperatura, con ligeras remisiones matinales y con cambios que oscilan entre 37º,5 y 39º,5, hasta fines de Abril que desciende por completo en lisis, en cuya apirexia continúa por espacio de tres semanas. Durante esta interrupción apirética, el estado general no mejora; el niño continúa en las mismas condiciones de gran postración, sin querer andar, cosa que antes hacía bastante bien, sin ganas de comer y sólo toma el pecho; el pulso se mantiene entre 100 y 110. El color no mejora, antes al contrario, parece se acentúa la palidez. El bazo continúa igual.

A primeros de Mayo comienza de nuevo otro período de temperaturas muy irregulares, pues unas veces está con 36º,5 y otras á 40 sin guardar relación con las horas ni con días. A mediados de Mayo se nota muy bien un edema palpebral, que varía según los días pero que no le abandona

hasta el final. Examinada la orina no contiene albúmina. El estado general empeora.

El 24 de Junio sigue igual y se lleva á cabo un recuento globular: *glóbulos rojos*, **4.900.000**; *glóbulos blancos*, **1.800** por milímetro cúbico.

El 1.° de Julio nótanse unas extravasaciones subepiteliales, como á picaduras de pulga, que continúan sin sufrir los cambios de color propios de los equimosis, pues aparecen de color rojo vivo hasta el final, sin aumentar de tamaño pero aumentando en número, abarcando indistintamente todas las regiones del cuerpo. El 15 de Junio aparecen en las caras dorsales de los pies unos verdaderos equimosis subdérmicos, en forma de gran mancha, que en los días sucesivos sufre los cambios de coloración propios de la sangre extravasada. El 20 de Junio aparece una ligera úlcera sangrante en el borde libre del maxilar superior izquierdo, pero sin que dé mal olor ni adquiera el aspecto gangrenoso y sin que se extienda. El pulso adquiere una frecuencia incontable y es filiforme. Nótanse síntomas bronco-pulmonares, sobreviniendo la muerte, por verdadero aniquilamiento, el día 27 de Julio, á las cuatro de la tarde.

Nota. — De los dos perros que tenían en casa ha sido examinada la sangre hepática el día 25 de Octubre de 1912. Resultado negativo.

2.° Carmen Griñó y Belsa, *dieciséis meses*. Cerros, calle Ros de Medrano, 23, 4.°, Tortosa. Padre de treinta y dos años, sano, matarife. Madre de treinta años, sana, trabaja en el Matadero. Tiene cuatro hermanos, todos mayores que ella. No padecieron más que sarampión y viruela dos de ellos hace cuatro años.

Está lactando de su madre; empezó á comer á los diez meses; desde hace unos tres meses nota su madre una gran palidez, así como notable adelgazamiento, lo que atribuye á la dentición, pues está en pleno brote dentario.

La presenta á la consulta del Dr. Vilá el día 17 de Agosto de 1912, y lo hace por notar una placa negra en el maxilar superior izquierdo.

El aspecto es el de un niño atrépsico, pues apenas se puede considerar á esta niña de edad superior á nueve meses. Color *céreo* pronunciadísimo de los tegumentos. Gran demacración, tanto del panículo adiposo, como una verdadera atrofia muscular generalizada. Ligerísimo edema palpebral y de los pies. Manchas rosáceas como á picaduras de pulga.

En la boca se nota una placa negra, que comprende parte del maxilar superior izquierdo, que abarca desde el segundo incisivo al segundo molar. Faltan aún cuatro molares y los cuatro caninos. Palidez de labios y lengua. Ligeros fenómenos bronquiales.

Pulso 120 y muy pequeño. Ningún fenómeno apreciable de corazón. Abdomen muy reducido de volumen, pero no deprimido. Hígado normal. Bazo del tamaño de una naranja y sin que se aprecie ptosis del órgano.

Temperatura 38°,5.

Fig. 1. — (Historia clínica núm. 1.°).

Día 18, mañana, 37°,8; sigue igual; bórrase el surco nasolabial; tarde, 39°, igual; *punción esplénica.*

Día 19, mañana, 38°; 128 pulsaciones; bórrase la fosa canina.

Día 20, mañana, 37°,6; 134 pulsaciones; amoratamiento ligero del carrillo.

Día 21, mañana, 39°; 130 pulsaciones; se extiende la placa necrótica.

Día 22, mañana, 38°; 130 pulsaciones; estado general muy malo, apenas lacta.

Día 23, mañana, 37°,2; 140 pulsaciones; estado general muy malo, apenas lacta.

Día 24, mañana, 37°,8; pulso incontable y filiforme (consulta con el Dr. Olivares).

Fallece á las ocho de la mañana.

Nota.—Refiere la familia que hace dos meses el padre de la niña dió muerte á dos perros que tenía en casa, enfermos desde hacía bastante tiempo, y los mató por la repugnancia que le causaban. Procedían estos perros de la partida de Fullola (Tortosa).

El examen de la sangre esplénica dió resultado positivo (gran número de Leishmanias).

3.° Manuel Escurriola Colomé, *diecisiete meses*. Calle de la Rosa. Padre de treinta y dos años, peluquero. Tuvo una lúes hace diez años. Madre de veintiocho años. Tuvo infección específica con síntomas acentuadísimos hace siete años; tuvo dos abortos.

El primer hijo falleció á los tres meses con signos evidentes de infección luética. El niño que le siguió disfruta de perfecta salud y cuenta hoy cuatro años.

Manuel nació sin estigma alguno apreciable y fué entregado á una nodriza robusta y sin antecedente alguno patológico. Esta nodriza tiene el niño en su casa, que está en el Arrabal de El Jesús; son labradores y cultivan un huerto en las cercanías del Arrabal.

Le presentan á la consulta del Dr. Vilá (Tortosa) á primeros de Septiembre de 1912, y lo hacen «*por un mal que se le presentó en la boca que le dificulta el tragar y le da fiebre*».

El aspecto general es el de una regular nutrición; color ligeramente pálido de los tegumentos (no es el color céreo característico). La boca, que tiene ocho incisivos y tres molares, presenta por toda su mucosa gingival palatina como de carrillos, y hasta en las amígdalas una serie de úlceras bastante extensas, pero muy superficiales, recubiertas en su mayoría por una ligera película blancuzca que está fuertemente adherida á la mucosa. Ello ocasionaba un continuo y abundante babeo y dificulta en gran manera la succión y la deglución.

El estado de la función digestiva aparece un tanto defectuoso. Las deposiciones, diarréicas y muy fétidas. El vientre bastante aumentado de volumen; el hígado permanecía normal y el bazo muy aumentado, siendo

del tamaño de una naranja muy grande. Nada anormal se observaba en los aparatos circulatorio y respiratorio; temperatura 38°,4. En este estado y con ligeras alternativas febriles entre 37°,8 y 39°,6, pero sin marcarse regularidad en los ascensos y descensos térmicos, con bastante pos-

Fig. 2. — Enferma Carmen Griñó (Historia clínica núm. 2.°).

tración continua por espacio de una semana, y entonces muy lentamente comienzan á mejorar los signos locales y generales, remitiendo por completo la fiebre y recuperando la normalidad absoluta el estado de la boca á los doce días de comenzado el proceso.

Nótase, no obstante, que ni el color mejora ni el bazo se reduce, antes al contrario, parece tiende á aumentar y la criatura aparece inquieta y muy débil.

A primeros de Octubre se presenta nuevamente un período de pirexias y se nota que en el transcurso de unos quince días el bazo aumenta á más del doble y el color de la cara adquiere el tinte céreo. Las tempe-

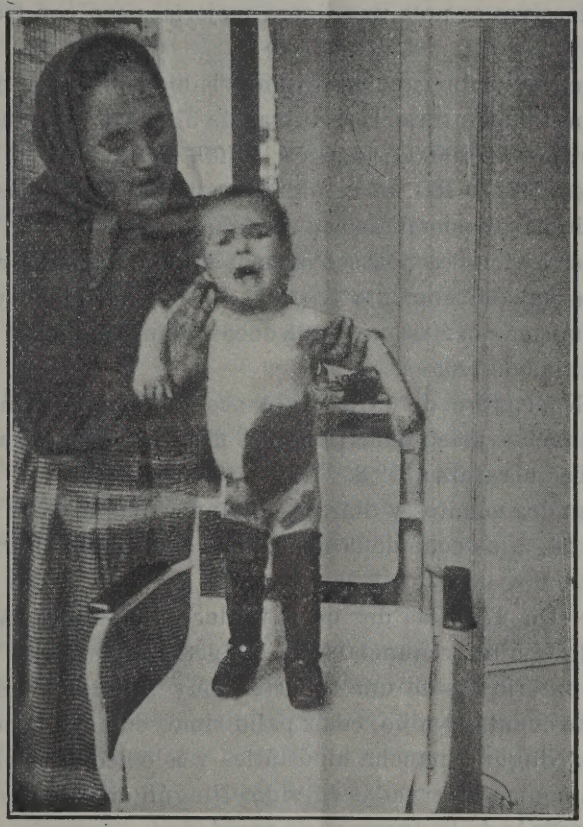


Fig. 3. — Niño M. Escurriola (Historia clínica núm. 3.°).

raturas son irregulares pero continuas, sin sudores pero con gran abatimiento, por más que la criatura lacta con avidez, aunque repugna la comida que antes tomaba con gusto. Nótase edema palpebral ligero.

El 6 de Octubre recuento globular: *5 millones de glóbulos rojos; 2.300 blancos;* de éstos, 72 por 100 mononucleares, en su mayoría linfocitos pequeños, y 28 polinucleares (linfocitosis acentuada con leucopenia).

Sigue en igual estado, y el día 18 de Octubre se nota una visible agra-

vación de pulso filiforme, una gran postración y una placa equimótica en la región frontal izquierda. El bazo adquiere el tamaño de una cabeza de feto á término. Las temperaturas continúan con sus alternativas sin fijeza ni regularidad alguna.

El 18 de Octubre nuevo recuento globular: rojos, *4 ½ millones*; blancos, *3.200*. Mononucleares, 67 por 100; polinucleares, 33 por 100.

El día siguiente punción esplénica.

Los días sucesivos se nota una ligera mejoría, pero con frecuencia de pulso (120).

El día 10 de Noviembre se observa una visible mejoría en el estado general, pero con temperaturas respectivas de 37°,4 á 37°,8; nuevo recuento globular: rojos, *3.700.000*; blancos, *5.100*. Polinucleares, 41 por 100; mononucleares, 59 por 100; se ve algún eosinófilo (rarísimos). El mismo día punción de bazo y siembras con resultado positivo.

El día 16 de Noviembre nótanse edemas muy acentuados en la cara y maleolos, que van en aumento hasta el día 20, en que hay verdadero anasarca. El mismo día 20 se notan de doce á veinte manchas equimóticas como á picaduras de pulgas.

Día 22 de Noviembre de 1912. Agrávase sobremanera; nótanse gran número de manchas petequiales; aparece un gran hematoma en la cadera derecha. Temperatura: 37°,8.

Día 24. Grandes vómitos y diarrea, que no ceden hasta la muerte, que ocurre el día 24, á las ocho de la noche, en colapso é hipotermia.

Autopsia.—Día 27, á las dos de la tarde. Sujetándonos á las órdenes expresas de la familia, renunciamos á la apertura craneal.

El aspecto exterior es de una robustez muy inferior á los diecinueve meses con que cuenta el niño, color palidísimo, edemas generales incluso en la cara. Ninguna mancha hipostática y sólo hematoma en la cadera derecha y petequias observadas en vida. Ningún olor de descomposición ni antes ni después de la apertura de cavidades.

Hecho el corte abdominal, no sale ni una sola gota de sangre ni siquiera se mancha el escalpelo; músculos de color rosado palidísimo. Salen unos 300 cent. cúb. de derrame ascítico. Las asas intestinales todas replegadas á la derecha, su pared muy tenue y completamente transparente, llenas sólo de gases que las distienden ligeramente; no pudimos apreciar granulación alguna en las placas de Peyero.

El *bazo* ocupa toda la mitad izquierda de la cavidad abdominal; mide 22 centímetros por 18, siguiendo su convexidad externa; ocupa hipocondrio, vacío y fosa ilíaca izquierdos, toda la hipogástrica y gran parte

de la umbilical. Su superficie, sin adherencia alguna, tiene un color azul ligeramente amoratado. El meso que le une es grueso y ancho, en el que surcan cuatro venas de calibre algo menor de una pluma de ganso. En la superficie del bazo se observan aún las dos punturas hechas en vida, que se manifiestan por dos puntitos rojos que destacan del color propio de la cápsula; el órgano, á la palpación, es duro y resistente, pero no alcanza á la dureza leñosa; al corte también es resistente y el escalpelo da un corte liso y limpio, sin que fluya por él, no ya masa alguna, ni siquiera sangre; el color del corte es rojo vinoso, surcado de finísimas trabéculas blanquecinas. En el meso están incluídos ocho ganglios del tamaño de un piñón unos y de una avellana otros.

El *hígado* había que buscarle por encima del reborde costal, pues era recubierto en absoluto por él. Liso y sin otras adherencias que las normales, muy blando y de color amarillo con suave tinte azafranado, color que en toda su superficie era igual, excepto alrededor de la vesícula biliar, que era ligeramente verdoso con irizaciones metálicas. De consistencia blanduja, que igual impresión dió al corte, al cual no sangró, dando una superficie también azafranada con un tenue punteado rojizo-pálido.

Los *huesos* (tibia y costillas) de color rojo vinoso que transparentaba perfectamente á través del periostio y que contrastaba con el color blanco nacarado de los cartílagos costales. Muy blandos al corte, pues las costillas se cortaron fácilmente con unas simples tijeras, sin costotomo; al cortarlas se deprimían sus superficies, y cuando cortamos un pedazo por la extremidad ya seccionada, dejó escapar una cierta cantidad de líquido rojizo.

Los *pulmones* sumamente pálidos, blanduzcos en extremo, y al corte grueso dejaban escapar una ligera cantidad de mucosidad.

El *corazón* de paredes muy pálidas y finas, con el ventrículo derecho moderadamente lleno de sangre muy flúida y apenas teñida; el izquierdo vacuo en absoluto; nada de rugosidades en la mucosa cardíaca. Ni en la pleura ni en el pericardio nada de derrame ni nada de adherencias.

El *riñón* de tamaño normal, de color pálido y bastante blando, dejando escapar á la sección bastante cantidad de líquido, al parecer orina.

Porciones de bazo, hígado, riñón, pulmón y médula ósea, recogidas para su examen histo-patológico, han sido fijadas en alcohol y hállanse actualmente en estudio.

Procuraremos ahora establecer una comparación, analizando, aunque muy someramente, los síntomas más importantes de los tres casos de Tortosa, y cotejándolos con el conjunto sindrómico

que se considera como característico del Kala-azar infantil, dejando para la última parte de este trabajo la exposición de los datos que se refieren al diagnóstico microbiológico y al estudio del parásito demostrado y aislado en los casos 2.° y 3.°

Conviene recoger ante todo aquellos datos clínicos que ofrecen mayor interés en nuestras observaciones, para poner de relieve cuáles de ellos coinciden y cuáles se separan de lo que corrientemente se describe como propio de la anemia leishmánica de la infancia, señalando de paso algunas particularidades que, á nuestro juicio, son dignas de mención.

Comenzando por la *etiología*, se aprecia desde luego que en estos tres casos queda una vez más confirmada la regla general que se desprende de todas las estadísticas (Nicolle, Jemma, Feletti, Longo, etc., etc.), respecto á la influencia que como factores etiológicos debe atribuirse á la edad, sexo, género de vida y condición social del sujeto.

Claro está que nos es difícil señalar el momento preciso de iniciación del proceso—dificultad con la que también han tropezado hasta ahora casi todos los clínicos—; pero, esto no obstante, parece lógico pensar que en las observaciones recogidas por el Dr. Vilá la enfermedad ha comenzado, al menos ostensiblemente, en el período comprendido entre el primero y segundo año de la vida, esto es, en aquella época precisamente que rinde el mayor tributo, según todas las estadísticas, á la anemia leishmánica de los niños.

De igual manera, nuestros enfermos pertenecen los tres á la clase pobre, coincidiendo en esto con la opinión de los observadores extranjeros, quienes reconocen en el proletariado un triste privilegio para padecer el Kala-azar infantil.

El sexo no parece tener en esta enfermedad una influencia notoria.

Sin embargo, en el conjunto de los casos publicados, salta á la vista un ligero predominio de los varones. Nuestra estadística es demasiado pequeña para que pueda eliminarse el factor ca-

sualidad; pero conviene anotar también en ella este predominio del sexo masculino (dos niños y una niña).

Merece consignarse igualmente que los tres vivían en el campo, en las cercanías de Tortosa ó en la periferia de la población, sin que hasta ahora haya sido posible, á pesar de las pesquisas incesantes de uno de nosotros, encontrar ningún otro caso en el casco de la ciudad, á semejanza de lo que parece ocurrir en otros pueblos del extranjero, como, por ejemplo, Palermo.

Analicemos ahora brevemente la sintomatología.

El color de la piel fué en dos de los casos (1.° y 2.°) marcadamente céreo, tal y como le ha descrito la escuela palermitana; en el otro era pálido nada más.

Esta diferencia de matices se cita por todos los autores, y ha sido comprobada por uno de nosotros en 14 casos observados en Sicilia (Palermo y Catania).

Contrastando con esta palidez resaltan los datos relativos al análisis de la sangre, en el que no puede menos de llamar la atención la escasa hipoglobulia de las observaciones 1.ª y 3.ª, únicas en las que este análisis pudo realizarse. Y esto es tanto más extraño por cuanto en los dos casos se trataba de niños en período ya muy avanzado de la enfermedad (atrofia, gran esplenomegalia, edemas, púrpura y estomatitis ulcerosa). A pesar de esto, en la 1.ª observación, un mes antes de la muerte, se obtiene una cifra de glóbulos rojos igual á 4.900.000, y en la 2.ª 5.000.000, aunque es cierto que en los análisis sucesivos esta cifra disminuye sensiblemente.

Tales resultados, por apartarse algo de lo que generalmente se observa, merecen citarse, siendo de lamentar que por motivos ajenos á nuestra voluntad no fuera posible determinar la hemoglobina, pues es probable, habida cuenta de los caracteres clínicos, que se hubiera obtenido un valor globular más bajo de lo que ordinariamente sucede en la anemia leishmánica la cual sólo en rarísimas ocasiones ofrece el tipo clorótico.

En cambio, la fórmula leucocitaria concuerda con la regla ge-

neral: leucopenia polinuclear y linfocitosis, que en estos casos ha sido muy acentuada.

La fiebre ha seguido en los tres casos un tipo marcadamente irregular, como sucede habitualmente. En el 1.° y 3.° merecen consignarse algunos períodos de apirexia, ya señalados con relativa frecuencia por otros observadores.

La esplenomegalia ha sido constante; mayor en las observaciones 1.ª y 3.ª, notándose, sobre todo en esta última, esos cambios bruscos en el volumen del bazo, tan á menudo observados y de tan difícil explicación á veces. En este caso parece haber coincidido el aumento del órgano con una agravación repentina de la enfermedad.

Un hecho muy digno de que sobre él llamemos la atención es la constancia con que nuestros enfermos presentaron alteraciones morbosas de la boca: estomatitis ulcerosa y úlcero-membranosa en el 1.° y 3.°, noma propiamente dicho en el 2.° Realmente, en el tercer caso es difícil precisar la verdadera causa de este síntoma, teniendo en cuenta la posibilidad de una infección luética; pero, de todos modos, no hay motivo serio tampoco para optar únicamente por este factor etiológico. La constancia de estas alteraciones de la mucosa bucal, señaladas ya en otras estadísticas, aunque nunca en tan elevada proporción, creemos que es un argumento en favor de la opinión sustentada por uno de nosotros (1), á saber: que con toda probabilidad son debidas, al menos primitivamente, á una acción patógena local del protozoo parásito.

Constantes han sido también, contribuyendo así á la más exacta identificación del cuadro clínico, tanto los edemas, acentuadísimos en el caso 3.°, como las manifestaciones purpúricas y hemorrágicas.

La nutrición se mantuvo discreta en los casos 1.° y 3.° En

---

(1) Pittaluga: *Revista Clínica de Madrid.* t. VIII, núm. 19, 1912.

cambio, en el 2.° el aniquilamiento era tan grande que recordaba el típico aspecto de la atrepsia.

Respecto al diagnóstico, llamaremos la atención sobre la observación 3.ª En ella, los antecedentes hereditarios (sífilis muy virulenta de los padres), las alteraciones ulcerosas de la boca y aun la misma esplenomegalia, tantas veces de origen luético, pudieron hacer pensar, sobre todo en los períodos de apirexia, en un proceso de lues hereditaria, si el examen de la pulpa esplénica no hubiera venido á confirmar la leishmaniosis. Esto prueba una vez más cuán expuesto es fundamentar únicamente en el cuadro clínico el diagnóstico etiológico de las anemias esplenomegálicas en los niños.

Por último, debe anotarse también que en dos casos (1.° y 2.°) los niños habían convivido con perros. En el 1.°, estos animales no parecían infectados, al menos en el momento del examen, según demostró el análisis de su sangre hepática. En el 2.°, por el contrario, todo hace creer que pudieron haber sido el origen de la infección, á juzgar por lo que nos dice el padre del enfermito (véase observación 2.ª nota).

Ya en prensa el presente trabajo, una cuarta observación, muy detallada, recogida por el Dr. D. Manuel Vilá, viene á aumentar la serie primera de estos casos españoles de Kala-azar infantil. He aquí esta historia clínica núm. 4:

4.° José Amaré Baubi, de *tres años;* calle Negrón, núm. 7, piso 3.° Padre, treinta y ocho años, labrador; madre, veintinueve; sanos los dos.

Tiene una hermana de seis años, sana.

En el mes de Agosto de 1911 tuvo el sarampión y quedó bien de él, sin que se notara trastorno alguno hasta el mes de Abril de 1912, en que la madre le notó un abultamiento en el vientre y algún trastorno gastro-intestinal, decidiendo consultar á un apreciable compañero, que le dijo que aquel bulto era el bazo grande. Mejoró algo el niño, pero el tumor no desapareció. En Mayo de 1912 se presenta un período febril, que fué calificado de infección de forma tífica por el estudioso y dignísimo compañero que le asistió en ausencia del que ordinariamente visitaba á la familia. Este período febril duró tres semanas, predominando, según

nuestras referencias, los síntomas tíficos de fuligo dentario, modorra, rinorragia, saburra lingual y diarrea. Mejoró á las tres semanas, adquiriendo el niño el aspecto seminormal, pero sin disminuir la esplenomegalia y notando la madre ciertos trastornos gastro intestinales y algún cambio de carácter, por cuya razón, en Septiembre de 1912, consulta nuevamente al mismo médico que la primera vez, quien le indicó (al decir de la madre) *que el mal sería largo y pesado.*

Ante tal estado, el 26 de Septiembre de 1912 es presentado á la Consulta del Dr. Vilá. Nótase gran palidez, pero no de color céreo, ligeros fenómenos bronquiales, el vientre abultadísimo; el bazo ocupa todo el lado izquierdo del abdomen, hígado no perceptible por debajo del reborde costal, ligero edema palpebral. Orina sin albúmina; pulso, á 100; temperatura, 39°. Dice la madre que hace días tiene fuertes accesos febriles, accesos que le observó los días sucesivos, que dan escalofrío, que se presenta entre nueve y diez de la mañana con temperatura de 39°,5 y que por la tarde ya baja entre 37°,8 y 38°,5. Duran hasta el 6 de Octubre.

1.° de Septiembre. Hematíes, 4.830.000; leucocitos, 2.800; linfocitos, 68 por 100; polinucleares, 32 por 100. Hay algunas formas de tansición. Es raro el encontrar algún eosinófilo.

A mediados de Octubre, normalizada la situación, y sólo con temperaturas respectivas de algunas décimas y con ligeros edemas maleolares.

El 15 de Octubre. Hematíes, 4.300.000, muchos con poiquilocitosis. Blancos, 2.100; linfocitos, 54 por 100; polinucleares, 46 por 100.

En 28 de Octubre, nueva fase de quince días con accesos de escalofrío y temperaturas elevadas, llegando á 40°, pero sin tener hora fija y siendo su elevación variada de diez á dieciocho horas. Hematíes, 3.000.000, muchos poiquilocitos, algunos nucleados. Blancos, 1.000; linfocitos, 74 por 100; polinucleares, 26 por 100.

Terminada esta fase de fiebre accesional, el niño queda sumamente abatido, los edemas son muy generalizados, existe algo de derrame ascítico, el niño está inquieto y llorón, pero tiene buen apetito.

El 15 de Noviembre las temperaturas se hacen muy irregulares, pues unas veces por la mañana, otras por la tarde, se le notan 6 ú 8 décimas y hasta 38°,5, el estado general muy agravado y el vientre con cantidad notable de derrame. Glóbulos rojos, 3.081.000; blancos, 1.000; linfocitos, 70 por 100; polinucleares, 30 por 100.

Continúa en igual estado, pero en seis ó siete días disminuyen de manera considerable los edemas y la ascitis, pero el bazo permanece abultadísimo y todo como descansando sobre la pelvis, ocupando hasta gran porción de la fosa ilíaca derecha.

El 28 de Noviembre aparece un pequeño foco de noma al nivel del segundo incisivo superior izquierdo.

El día 5 de Diciembre cae el incisivo con un pequeño secuestro, desaparece el olor fétido, y parece que el niño toma mejor el alimento, pero el día 10 aparece otra placa extensa de gangrena al nivel del último molar izquierdo superior que en cuatro días se extiende á la bóveda palatina con el pilar anterior y parte de la tonsila. Hay intensísima adinamia, no toma alimento alguno. Pulso de 140; temperaturas, oscilando entre 37°,3 y 38°,5.

El 18 de Diciembre, punción esplénica, hallazgo de leishmanias, pero en número muy escaso y todas, al parecer, extracelulares; eritrocitos profundamente alterados. Se hacen siembras en agar sangre, con resultado positivo. Continúa en igual estado hasta el día 21 de Diciembre á las doce de la tarde, en que fallece.

Nota.—Se hicieron punciones hepáticas en dos perros, que tal vez tenían alguna relación con la familia; el examen de la sangre fué negativo.

IV

La demostración de las formas parasitarias específicas del proceso morboso se obtuvo, en los casos 2.° y 3.°, con el procedimiento de la punción esplénica y examen microscópico de preparaciones de la pulpa del bazo. La punción del bazo se hizo siguiendo la técnica clásica, en cuanto á delimitación y fijación del área esplénica, y empleando desde luego una jeringuilla de Pravaz con aguja no muy fina, de punta acuminada, pero de calibre mediano. La cantidad de material esplénico aspirado es siempre mínima: sólo se necesitan pocas gotas, generalmente, para el diagnóstico. Los frottis del material esplénico han sido teñidos con el método de Giemsa, con el Leishman ó con el azul Marino. No hemos apelado, por ahora, al procedimiento preconizado por PIANESE, á saber: la punción de la diáfisis de los huesos largos, ni creemos que deba emplearse para el diagnóstico *intra vitam*.

Las microfotografías (láms. I, II y III) que acompañan al presente trabajo, corresponden á preparaciones de pulpa esplénica del caso núm. 1.° (fig. 1) y del caso núm. 2.° (fig. 2).

En ambos el examen microscópico demuestra la presencia de numerosos protozoos parásitos, casi todos endocelulares, y sólo en parte esparcidos en pequeñas agrupaciones en el plasma intercelular. Hállanse contenidas las formas parasitarias casi siempre en grandes células endoteliales, elementos distribuídos al azar en el frottis de la pulpa esplénica, aunque á veces reunidos en reducidas agrupaciones, y procedentes del endotelio que tapiza las lagunas sanguíneas del bazo. Al propio tiempo se ven no pocos parásitos en el interior de los macrófagos, de grandes mononu-

cleares y de células propias del tejido citógeno esplénico, que algunos autores comparan á las mieloplaxias, y que representan probablemente el primer término de la evolución linfógena de las áreas perivasculares y de las agrupaciones celulares constitutivas de los corpúsculos de Malpighi.

Recorriendo los campos microscópicos se encuentran con gran frecuencia, en todas las preparaciones procedentes de los casos 2.° y 3.°, grupos de cinco, diez, á veces veinte ó treinta ó más parásitos en el interior del citoplasma de las células antes indicadas. Cuando el número de los parásitos endocelulares supera las cifras ahora recordadas, los citoplasmas de las células parasitíferas aparecen pálidos, deformados; los núcleos desplazados, rechazados hacia la periferia. Tales formas parasitarias endocelulares ofrecen todas aspecto discoidal ú ovalado, con un diámetro medio de dos á tres y media micras, con una masa nuclear excéntrica y un recio bastoncito de cromatina extranuclear, más ó ó menos alejado del núcleo y dispuesto en un punto cualquiera del escaso citoplasma del protozoo. Muchas veces este cuerpo cromático extranuclear aparece como un corpúsculo esferoidal ó ligeramente fusiforme, en los límites mismos del citoplasma; á veces, en cambio, hállase colocado ó dispuesto transversalmente al eje longitudinal del parásito, entre el borde protoplásmico y la masa nuclear propiamente dicha. Siempre reacciona con una intensa impregnación á los colores electivos de la cromatina, y, en particular, con el método de Marino y con el método de Leishmann se pone de relieve una diferencia muy considerable entre el tono de color del núcleo—rosado ó rojo carmín—y el tono que adquiere el bastoncito ó corpúsculo cromático extranuclear, que es de color púrpura muy obscuro ó morado. Las formas extracelulares ó libres, entremezcladas con los materiales propios de la pulpa esplénica (hematíes, deshechos de hematíes en diferentes fases degenerativas ó de desintegración, linfocitos, escasos leucocitos polinucleares, grandes mononucleares y grandes elementos del tejido citógeno esplénico, células endoteliales, etc.),

aparecen casi siempre más alargadas, francamente ovoideas, algunas de ellas puntiagudas, quizás de dimensiones mayores que las endocelulares (de tres á cuatro micras de longitud).

Apresurémonos á declarar que las preparaciones hechas con la técnica ya indicada, esto es, por arrastre ó extensión de la pulpa esplénica en cubre ó porta-objeto, no permiten resolver la cuestión de la existencia de verdaderas formas libres en la sangre del bazo. Es muy verosímil que, en determinados períodos de la evolución de la *Leishmania* en el organismo del niño atacado, se encuentren formas libres en el plasma; pero es probable que tales formas no ofrezcan aspecto y estructura idéntica á las formas parasitarias endocelulares; y, por otra parte, es posible que las *Leishmanias* que se aprecian esparcidas en el plasma intercelular del parénquima esplénico procedan de formas endocelulares, arrastradas fuera del protoplasma de la célula huésped durante la ejecución del frottis. Estas formas presentan igualmente las dos masas cromáticas antes descritas, á saber: una masa nuclear propiamente dicha, homóloga del *trofonúcleo* de los tripanosomas, y un bastoncito cromático extranuclear, que debemos considerar como homólogo del *kinetonúcleo* ó *blefaroplasto* de los tripanosomas.

Desde luego, no hemos visto jamás en las preparaciones de pulpa esplénica formas flageladas del parásito. En cambio, debemos declarar que, en algunas de las preparaciones examinadas, aparecen hematíes parasitíferos. La cuestión de la existencia de una fase endoglobular de las *Leishmanias* no solamente se halla sin resolver, sino que carece hasta ahora de los datos de observación y de los fundamentos experimentales para poder intentar su resolución. Los protozoos del género *Leishmania* han sido objeto durante estos últimos años de estudios y pesquisas muy detenidas, á partir de las primeras investigaciones de Leishman y Donovan. Pertenecen estos protozoos á un grupo sumamente interesante, desde el punto de vista biológico, puesto que ofrecen caracteres comunes ó de gran afinidad, por un lado, con los pará-

sitos endoglobulares, en particular con los piroplasmas (*Babesia*), y, por otro lado, con los flagelados del grupo de los tripanosomas Puede afirmarse que constituyen el grupo central, típico, de los *Binucleata* de HARTMANN. Ahora bien; la primitiva localización endocelular de las *Leishmanias* permanece dudosa (y esto se refiere así á la *Leishmania donovani* del Kala-azar indiano, como á la *Leishmania tropica* ó *forunculosa* de Wright en el botón de Oriente, y á la *Leishmania infantum* de la esplenomegalia parasitaria de los niños, de que estamos tratando).

El paso á través de la corriente circulatoria, ya hemática, ya linfática, antes de la penetración en las células de los parénquimas esplénico, hepático, de la médula ósea, etc., ¿acontece sencillamente por multiplicación y migración de formas libres, ó bien por medio de una fase de desarrollo endoglobular en los hematíes del vertebrado parasitífero (hombre, perro)? No somos, ciertamente, los primeros en denunciar la presencia de formas que ofrecen todo el aspecto de formas endoglobulares, encerradas en los glóbulos rojos. Observaciones anteriores de FRANCHINI y otros, avaloran nuestra sospecha. De todos modos, las microfotografías reproducidas en las figuras 5 y 6 de la lámina III, permiten cerciorarse de la existencia de estas formas. A la observación microscópica en el campo de la preparación reproducido en la figura 5 de la lámina III, se aprecian con absoluta claridad tres pequeñas formas endoglobulares, ó por lo menos imposibles de separar de los planos ópticos que corresponden á los planos intermedios del disco globular.

Muchas veces se aprecia claramente la degeneración y destrucción del citoplasma de las grandes células invadidas por la *Leishmania*, que aparecen disgregadas, reducidas á pálida sombra alrededor de restos nucleares, en cuya proximidad se hallan siempre muy numerosos parásitos (fig. 6, lám. III).

Cultivos del parásito.—Las siembras del material esplénico parasitífero, obtenido por punción del bazo, se hicieron desde luego en terreno NOVY-MAC NEAL-NICOLLE (N. N. N.) preparado

con sangre de conejo íntegra (sin desfibrinar), siguiendo casi en todo la técnica de IEMMA, DI CRISTINA y CANNATA (Laboratorio de la Clínica pediátrica de la Universidad de Palermo). Hemos extraído siempre la sangre aspirando directamente del corazón de conejos sanos y adultos. La proporción de la mezcla de sangre fresca y de agar-agua para la preparación de los tubos de cultivo ha sido aproximadamente la de partes iguales de sangre y de agar previamente distribuído, esterilizado y fundido. Conviene observar algunas precauciones al distribuir la sangre fresca en los tubos, para evitar en primer lugar la contaminación de los mismos por bacterias ó ifomicetos; en segundo lugar, la formación de burbujas de aire ó de espuma al agitar la mezcla antes de inclinar el tubo para obtener el terreno agar-sangre en pico de flauta. Naturalmente, todos los tubos así preparados se dejan cuarenta y ocho horas en estufa á 37° para comprobar que permanecen estériles. El cierre debe ser cuidadoso para impedir la evaporación y favorecer por tanto la formación de agua de condensación abundante, medio que juzgamos indispensable para lograr el desarrollo de los flagelados procedentes de siembras de la *Leishmania*.

Los primeros tubos de terrenos N. N. N. se hicieron á mediados de Noviembre último (en el Laboratorio de Parasitología del Instituto de Alfonso XIII). Seis de éstos, remitidos á Tortosa, fueron sembrados con pequeña cantidad de material procedente de punción esplénica del niño Manuel Escurriola (caso núm. 3.°). Casi todas las siembras dieron resultado positivo en este primer cultivo directo. A los cuatro días de estufa á 22°, en el agua de condensación de tres tubos entre cuatro devueltos de Tortosa después de la siembra, se apreciaban al examen directo numerosas formas de *Leptomonas* (1) muy ágiles en su mayoría y aisla-

(1) Creemos que no debe emplearse para indicar los flagelados procedentes de las *Leishmanias*, el nombre de *Herpetomonas*. (Véase á este propósito el reciente artículo de E. HINDLE: «What is the Genus Leptomonas Kent?» en *Parasitology*, Junio 1912). Tampoco el nombre *Leptomonas* debe aplicarse en este caso como nombre

das; algunas aglutinadas ó reunidas en agrupaciones; todas ellas dotadas de largo flagelo único. Uno de los cuatro tubos se infectó, y en él no aparecieron desde luego formas flageladas de *Leishmania;* puede afirmarse que el protozoo no se desarrolló en este terreno contaminado por especies bactéricas.

El día 24 de Noviembre se llevó á cabo el primer pase desde los tres tubos anteriores (generación de flagelados *a*), sembrando en 12 tubos N. N. N. (generación *b*). Esta generación *b* se desarrolló solamente en uno de los 12 tubos sembrados; los demás dieron resultado negativo y aparecieron en su mayoría, en los días siguientes á la siembra, contaminados por colonias de ifomicetos. Con este único tubo de *Leishmanias* de la generación *b* se llevó á cabo el segundo pase el día 2 de Diciembre en 12 tubos N. N. N. cuidadosamente preparados. De éstos prendieron ocho (generación *c;* flagelados muy abundantes y dotados al parecer de gran movilidad, en buenas condiciones de vitalidad; desarrollo en estufa á 22°). El día 11 de Diciembre se hace el tercer pase (generación *d*) en nueve tubos. Finalmente, hemos obtenido la quinta generación de flagelados (generación *e*) con un cuarto pase en ocho tubos sembrados el día 19 de Diciembre de los anteriores.

Una nueva raza de *Leishmanias*, procedente del caso núm. 4 (niño José Amaré), ha sido sembrada en estos últimos días en Tortosa con resultado igualmente positivo.

Por ahora podemos, pues, afirmar que hemos logrado la quinta generación de flagelados (Leptomonas) procedente de *Leishmania infantum*, en terreno de agar-sangre N. N. N.

El examen del agua de condensación es desde luego decisivo á los cinco ó seis días de la siembra (cuando los tubos permanecen á temperatura constante de 22°). En ese momento del culti-

---

genérico, y sí sólo como recuerdo de caracteres comunes con el género *Leptomonas*, *strictiori sensu*. Mejor diríamos «formas leptomonadinas» ó «formas leptomonas».

G. Pittaluga.

vo, los flagelados aparecen bien desarrollados, con su aspecto normal, dimensiones variables entre 4 y 10 μ de largo; 2 á 3 μ de ancho; movilidad grande, etc. Sin embargo, la observación metódica de la colonia protozoárica en los días anteriores ó posteriores á ese período, ó de cultivos conservados en ambientes de temperatura inconstante, permite apreciar interesantes modificaciones estructurales y morfológicas del parásito en el terreno artificial. No es infrecuente encontrar, al examen del agua de condensación, numerosos y pequeños cuerpos granulares, casi amorfos, sumamente móviles, dotados de movimiento propio, de dimensiones variables entre $^1/_2$ μ y 1 μ, ó á lo sumo 1 $^1/_2$ μ. Estas formas recuerdan en modo singular las que se observan en el desarrollo de los tripanosomas de los mamíferos en ciertas fases evolutivas que coinciden con la desaparición de las formas típicas de los flagelados en la sangre periférica de los animales parasitíferos, y que nosotros hemos llamado «formas iniciales» (1).

En coincidencia con el tercero ó cuarto día después de la siembra, se observan por lo general en los cultivos formas esferoidales ú ovoideas, de un tamaño variable entre 2 $^1/_2$ y 4 $^1/_2$ μ ó poco más, móviles y dotadas de un flagelo claramente visible, aunque al parecer más corto que el flagelo de las formas de Leptomonas completamente desarrolladas, de los días siguientes.

Conviene hacer constar que hemos observado una estricta relación entre el desarrollo de las *Leishmanias* en los cultivos y la presencia de hematíes bien conservados y en buen número en el terreno. La persistencia de glóbulos rojos íntegros en el agua de condensación de los tubos, ó cuando menos la abundancia de hematíes en buen estado de conservación, sin hemolisis muy acen-

---

(1) Véase: «Informe sobre la enfermedad del sueño en la Guinea española», página 327: G. Pittaluga y L. Rodríguez Illera. *Observaciones y estudios experimentales sobre el Tripanosoma gambiense* (con tres láminas y figuras). Las formas llamadas por nosotros «iniciales» no deben confundirse con los llamados *latent-body* por S. Moore y Breinl, aunque probablemente proceden de estos últimos.

G. Pittaluga.

tuada y sin deformaciones graves del estroma, es, en nuestra opinión, indispensable para el crecimiento del protozoo. Esta observación inclina nuevamente el ánimo á pensar que las Leishmanias atraviesan un período de desarrollo endoglobular ó cuando menos estrictamente ligado con el glóbulo rojo.

El desarrollo de los flagelados de los cultivos es tardío cuando los tubos se conservan á la temperatura inconstante del ambiente exterior (12°-18°). Variaciones extremadas ó muy acentuadas de esta temperatura alteran desde luego profundamente los caracteres morfológicos y la vitalidad de las Leishmanias ; pero nosotros no podemos todavía afirmar si existen ó no *formas de resistencia* (¿formas quísticas?) cuales han sido sospechadas y hasta descritas, si bien con alguna reserva, por otros observadores (Franchini). La biología de la *Leishmania* «*in vitro*» será objeto de ulteriores comunicaciones.

Hemos querido averiguar si la mezcla de sangre respectivamente venosa ó arteriosa en los tubos de agar ejercía alguna influencia sobre el desarrollo del parásito en los cultivos. No hemos logrado poner de relieve la menor diferencia, ni en el tiempo de crecimiento, ni en el aspecto y vitalidad de los flagelados, entre los sembrados en N. N. N. con sangre venosa (corazón derecho) y los sembrados en N. N. N. con sangre arteriosa (corazón izquierdo).

Tuvimos ocasión de observar, durante esta primera serie de pesquisas, que casi todos los conejos comunes de los cuales procedía la sangre para la preparación del terreno hospedaban el *Trypanosoma cuniculi (T. lewisi* var.). Surgió entonces en nuestro espíritu la duda de si la presencia de este flagelado en la sangre destinada á la preparación del terreno N. N. N. podría influir en las condiciones de este último relativamente al desarrollo de las *Leishmanias.* No hemos encontrado apuntada esta sospecha en ninguno de los trabajos anteriores. Es posible que los demás investigadores no se hayan encontrado con conejos espontáneamente infectados de tripanosomas. Claro es, de todos modos, que la temperatura del agar fundido, con que se mezcla la sangre extraí-

da del corazón del conejo (temperatura ciertamente superior á 60°), parece impedir la supervivencia de formas de tripanosomas en el terreno agar-sangre. Y sin embargo, hemos sido sorprendidos, en estos últimos días, por un hecho que juzgamos de gran interés; en uno de los tubos, observados al cuarto día de la siembra, hemos encontrado formas típicas de *Trypanosoma*, bastante numerosas, dotadas de movilidad no muy acentuada, pero vitales, en convivencia con las formas de *Leptomonas* características de las *Leishmanias*.

Acerca de este hallazgo, que merece detenido estudio, volveremos á tratar en ulteriores comunicaciones.

Cabía pensar, además, que las substancias existentes en el plasma de los animales tripanosomiásicos tuvieran alguna influencia sobre el desarrollo de protozoos afines, como las *Leishmanias*. Por ahora, sin que demos por terminadas nuestras investigaciones en este sentido, podemos adelantar que la proporción de resultados positivos, en el crecimiento de las colonias de *Leishmanias*, es quizás mayor en los tubos preparados con sangre de conejos portadores de tripanosomas que en los tubos preparados con sangre de conejos no tripanosomiásicos.

Inoculaciones experimentales. — Con el material procedente de un cultivo en terreno N. N. N., rico en parásitos en buenas condiciones de vitalidad ($^1/_2$ cent. cúb. del agua de condensación), fué inoculado el día 2 de Diciembre un primer *perro* (núm. 1), fox-terrier, joven, de 6.600 gramos de peso. Un segundo perro, fox-terrier, cachorro, de 7.300 gramos de peso, fué inoculado el día 9 de Diciembre con 1 cent. cúb. de material procedente del agua de condensación de tres tubos N. N. N., muy ricos en parásitos.

Ambas inoculaciones se hicieron en el parénquima hepático, mediante inyección con jeringa de Pravaz en el penúltimo espacio intercostal. Los resultados de estas inoculaciones serán objeto de ulteriores comunicaciones.

A partir del mes de Agosto hasta el día 10 de Noviembre último, uno de nosotros (Vilá) había llevado á cabo el examen de

ocho perros de la localidad (Tortosa), todos ellos de procedencia sospechosa por pertenecer á familias que habían tenido ó tenían niños enfermos de esplenomegalia parasitaria. El examen de la sangre obtenida por punción del parénquima hepático ha dado hasta ahora, en dichos perros, resultado negativo.

Creemos que para estas pesquisas conviene esperar la temporada de primavera, en que tendremos ocasión favorable para las investigaciones epidemiológicas. De todos modos, la leishmaniosis espontánea de los perros no es tan frecuente como en principio se pensaba.

Se han examinado igualmente, hasta ahora, un centenar de culícidos (mosquitos del género *Culex* y del género *Anopheles*), capturados en las habitaciones donde viven y duermen los niños atacados de Kala-azar, á los cuales corresponden las anteriores historias clínicas. En ninguno de ellos el examen directo en fresco ha demostrado la presencia de parásitos identificables con las *Leishmanias*, ni de otra clase, en el tubo digestivo; si se exceptúa uno del cual se han obtenido preparaciones que, teñidas con métodos apropiados, revelan la existencia, en el contenido del estómago, de formas singulares, ovoideas ó ligeramente alargadas, dotadas de dos masas nucleares, ó mejor dicho, de dos cuerpos cromáticos, inconfundibles desde luego con los ooquinetos de los parásitos del paludismo, por carecer en absoluto de restos de hemozoína (pigmento melánico) y por la misma estructura ya apuntada. No podemos insistir sobre este hallazgo ni adelantar, por ahora, interpretación alguna acerca de él. Esperaremos la confirmación de más numerosas observaciones

Tal es, en conjunto, el corto camino por nosotros recorrido en estos meses en el estudio del Kala-azar infantil en España. Abrigamos la esperanza de cooperar á la resolución de algunos de los problemas relacionados con esta gravísima enfermedad de los niños; y en sucesivas publicaciones nos proponemos dar cuenta de nuestra modesta labor.

Diciembre, 1912.

WELLCOME LIBRARY INSTITUTE

EXPLICACIÓN DE LAS LÁMINAS

Todas las microfotografías han sido obtenidas con el aparato Leitz de arco voltáico de la Facultad de Medicina de Madrid; microscopio Zeiss, objet. apocromat. inmers. homog. 2 mm., apert. 1'30; ocular de proyección 2 (aumento 1.200 diám.). Preparaciones teñidas con Giemsa, Leishman ó Marino.

Lám. I. — Fig. 1: Tres formas de *Leishmania* endocelulares, en el citoplasma de una gruesa célula endotelial del parénquima esplénico, rodeada de mononucleares, linfocitos y hematíes. — Fig. 2: Grupo de *Leishmanias* endocelulares *ut supra*.

Lám. II.—Fig. 3: Se aprecia una agrupación numerosa de parásitos en los restos citoplásmicos de un leucocito. — Fig. 4: Agrupación compacta de parásitos (*magma parasitario; ¿grupo de merozoitos?*) en las cercanías de un grueso macrófago.

Lám. III.—Fig. 5: Grupo de *Leishmanias* alrededor de un grueso núcleo celular; tres formas al parecer endoglobulares, en la parte alta derecha del campo microscópico. — Fig. 6: Grupo de parásitos entre los restos citoplásmicos de un grueso mononuclear. En la parte baja izquierda del campo microscópico una forma ovoidea, alargada, de *Leishmania*, al parecer unida con un resto de hematíe.

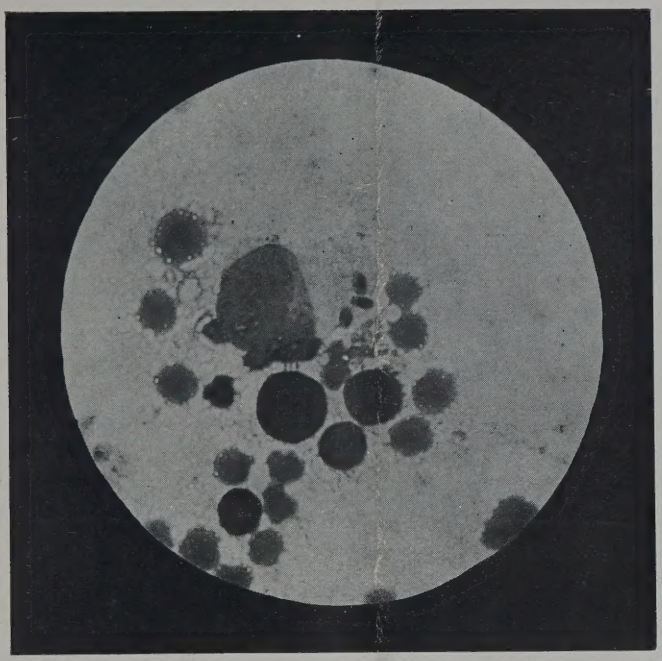


Figura 1.

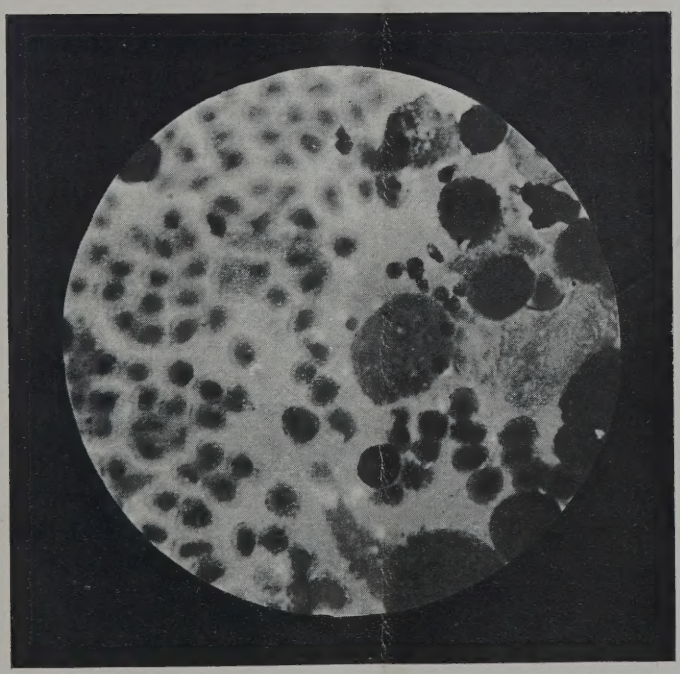


Figura 2.

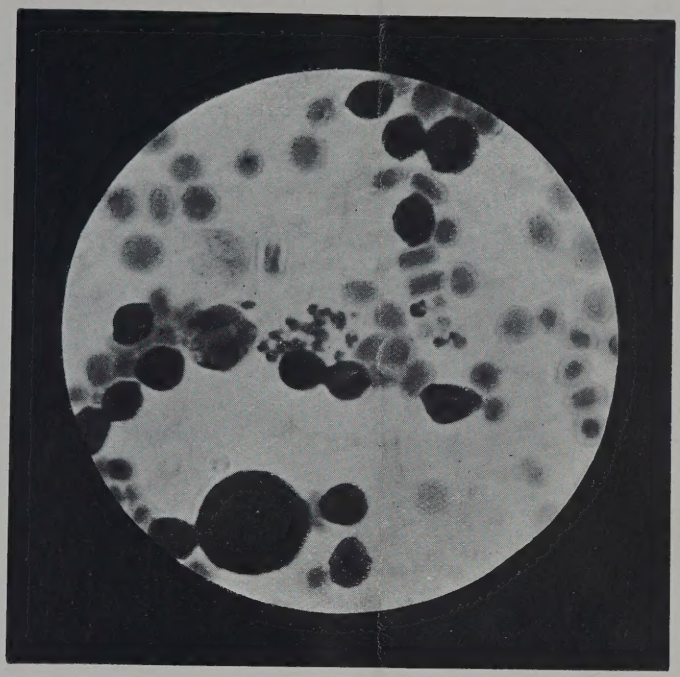


Figura 3.

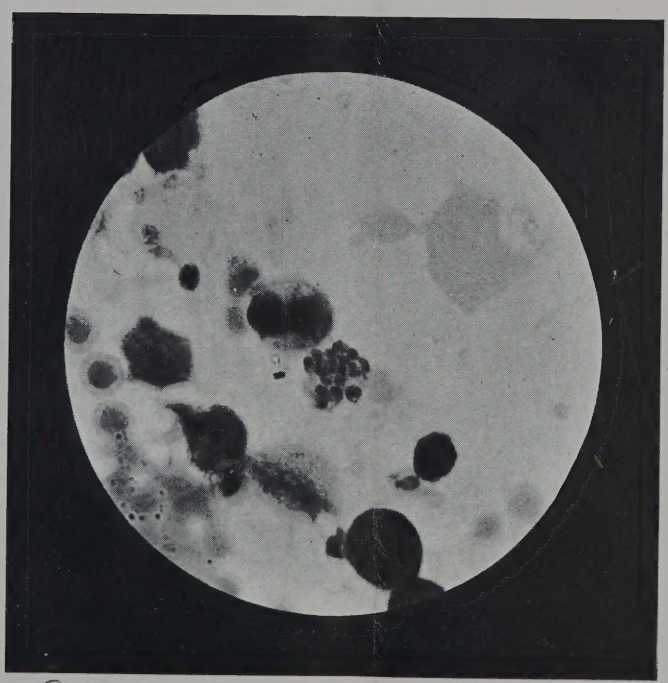


Figura 4.

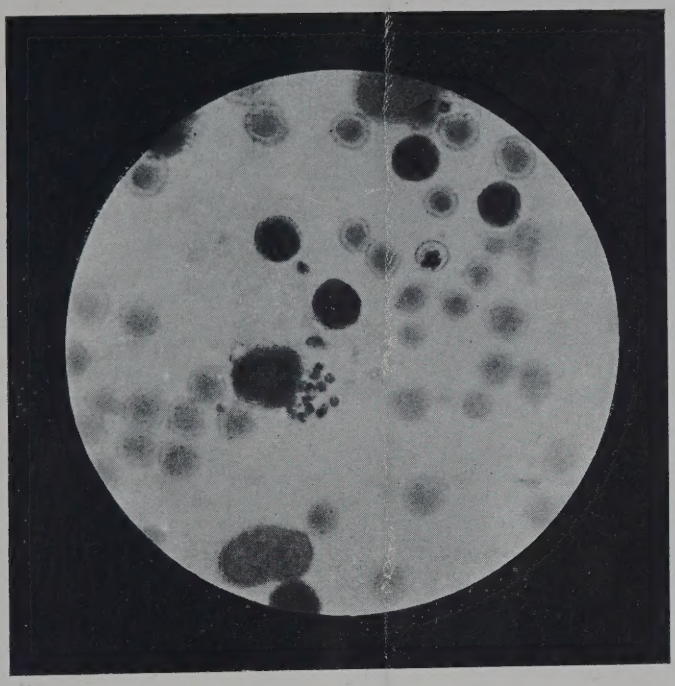


Figura 5.

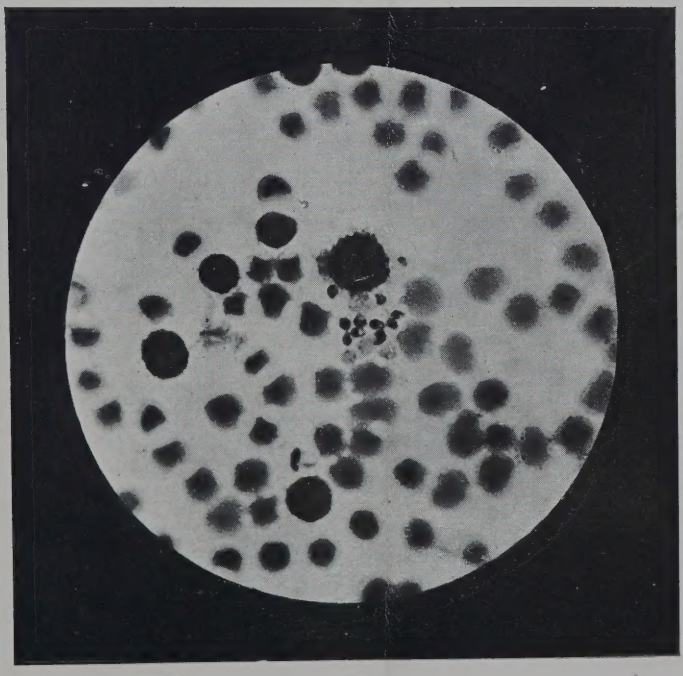


Figura 6.